

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Kateřina Kholová

Draslík v osmoregulaci rostlin

Potassium in plant osmoregulation

Bakalářská práce

Školitelka: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Marek Šustr

Praha, 2019

Poděkování:

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce RNDr. Editě Tylové za věnovaný čas, trpělivost, vstřícnost a odbornou pomoc. Dále bych ráda poděkovala konzultantovi Mgr. Markovi Šustrovi za pomoc s dokončením.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze

Kateřina Kholová

Abstrakt

Draslík je v rostlině velmi mobilní a je čile transportován přes membrány, za pomoci transportérů a kanálů. Vyskytuje se v rostlině výhradně ve formě iontu K^+ . Rovněž ve formě tohoto iontu je přijímán z půdního roztoku a to pomocí transportéru HAK5 a kanálu AKT1. Kanál SKOR a transportér KUP7 zprostředkovává přenos K^+ do xylému.

Klíčová je role draslíku jako osmoticky aktivního prvku, který reguluje množství vody v buňkách a tím i udržování turgoru, nezbytného pro udržení tvaru rostlinné buňky a její růst. Jako modelový systém pro popis procesů souvisejících s osmotickou funkcí K^+ se rozšířilo využití průduchů. V průduchách, totiž pohyb K^+ umožňuje regulaci otevírání a zavírání apertury na principu změn turgoru. Do svěracích buněk zajišťují transport K^+ kanály KAT1, KAT2, AKT1 a AKT2, odvod K^+ naopak obstarává kanál GORK na plazmatické membráně a TPK1 na tonoplastu. Draslík také podporuje transport asimilátů ve floému, v čemž hraje roli kanál AKT2. Právě osmotické funkce K^+ jsou hlavním tématem této bakalářské práce, která shrnuje aktuální poznatky o transportních mechanismech K^+ nezbytných pro funkci K^+ jako osmoticky aktivní látky.

Klíčová slova: draslík, transport, osmoregulace, turgor, průduchy

Abstract

Potassium is very mobile in plants and is transported across membranes using transporters and channels. It⁺ is present in the ionic form K⁺ in plants. Also, in the form of this ion, K⁺ is taken up by plants from the soil solution. The uptake is mediated by the transporter HAK5 and by the channel AKT1. The transfer of K⁺ to the xylem is provided by the channel SKOR and the transporter KUP7.

The role of potassium as an osmotically active element is crucial. K⁺ helps to regulate the amount of water in the cells and thus to maintain the turgor. Turgor is important for maintaining the shape of the plant cells and for its growth. Stomatal guard cells are used as a model system for describing processes related to the K⁺ osmotic function. Movement of K⁺ is involved in the regulation of opening and closing of stomata on the principle of turgor changes. Transport of K⁺ into guard cells is provided by channels KAT1, KAT2, AKT1 and AKT2. On the contrary, K⁺ release is mediated by the channel GORK on the plasma membrane and TPK1 on the tonoplast. K⁺ supports also the transport of assimilates in the phloem, where the channel AKT2 plays a role. The osmotic functions of K⁺ are the main topic of this bachelor thesis, which summarizes current knowledge about transport mechanisms necessary for the function of K⁺ as osmotically active substance.

Key words: potassium, transport, osmoregulation, turgor, stomata

Seznam zkratek

ABA kys. abscisová (Abscisic Acid)

AKT (Arabidopsis K⁺ transporter)

AtKC1 (Arabidopsis thaliana K⁺ channel 1)

CBL - Calcineurin B-like protein

CIPK - protein kináza interagující s Calcineurin B-like proteinem (CBL-interacting Protein Kinase)

CPDKs nebo také CPKs - vápník dependentní proteinkinázy (Calcium-Dependent Protein Kinases)

GORK – draselný výtokový kanál (Guard Cell Outward Rectifying K⁺ Channel)

HAK – draselný vstupní transportér (High Affinity K⁺)

KAT (Arabidopsis K⁺ transporter)

KCO3

KUP – draselný vstupní transportér (K⁺ uptake)

PP2C (type 2 C Protein Phosphatase)

PYR/PYL/RCAR (Pyrabactin Resistance 1/ PYR-Like/ Regulatory Component of ABA Receptor)

ROS reaktivní formy kyslíku (Reactive oxygen species)

SKOR (stelar K⁺ outward rectifyer)

SLAC1 (Slow Anion Channel-associated 1)

SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment Protein Receptors)

SnRK2 (Snf1-Related Protein Kinase 2)

SPICK1 a 2 (Samanea Pulvini Inwardrectifying Channel for K no. 1 and no. 2)

SPOCK1 (Samanea Pulvini Outward-rectifying Channel for Kno. 1)

SPORK1 (Samanea Pulvini Outward-Rectifying K Channel no. 1)

TEA⁺ (tetraethylamonium)

TPK (Two-Pore K⁺ Channel)

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Význam draslíku v rostlině.....	2
2.1.	Projevy nedostatku draslíku.....	3
3.	Výskyt draslíku v prostředí	4
4.	Transport draslíku.....	5
4.2	Příjem draslíku z prostředí.....	5
4.2	Pohyb draslíku v rostlině	9
5.	Osmotické funkce draslíku	11
5.1.	Role draslíku při regulaci otevřenosti průduchů.....	11
5.1.1.	Výdej draslíku při zavírání průduchu	14
5.1.2.	Příjem draslíku při otevírání průduchu.....	17
5.2.	Role draslíku v růstu buněk.....	19
5.3.	Role draslíku v rychlých pohybech rostlin.....	19
6.	Závěr	20

1. Úvod

Draslík je esenciální minerální prvek, který hraje nezastupitelné role v rostlinných buňkách (Marschner, 1995). Aktivuje celou řadu enzymů a má vliv na proteosyntézu. Při fotosyntéze se účastní transportu H^+ přes thylakoidní membránu a stimuluje fixaci CO_2 . Pohání nakládání solutů do floému, hromadný tok v něm a vykládání v cílovém pletivu. Protože se vyskytuje v půdním roztoku i v rostlinném těle pouze ve formě iontu (Brady and Weil, 2002), který nese kladný náboj, může vyvažovat záporné náboje (v buněčných kompartmentech, např. NO_3^- , Cl^- a malát $_2^-$) a ovlivňovat polarizaci membrány. Je klíčový pro osmoregulaci, zvýšením jeho koncentrace v buňce, dochází k poklesu vodního potenciálu a voda je transportována po směru koncentračního spádu. Množství vody v buňce vytváří tlak na plazmatickou membránu, tzv. turgor, ten umožňuje rostlinným buňkám a pletivu udržovat tvar a pevnost, je nezbytný pro růst buňky a v neposlední řadě umožňuje pohyby rostliny (tropismy a nastie) a především se účastní procesu otevírání a zavírání průduchů. Na regulaci pohybů průduchů je přímo závislá regulace transpirace a příjem CO_2 z atmosféry. Transpirace, tedy výdej vodní páry z mezibuněčných prostor listů, vytváří negativní tlak v xylému a je hlavním faktorem pohánějícím transport v xylému. Dalším je tvorba osmotického potenciálu ve středním válci kořene, který umožňuje příjem vody z půdy a vytváří tzv. kořenový vztlak.

Lze uzavřít, že příjem draslíku a jeho transport rostlinou je nezbytný pro růst a vývoj rostliny. Pro osmotické funkce draslíku jsou klíčové transportní proteiny (kanály a transportéry) na membránách, které umožňují regulovat jeho příjem z prostředí, transport v rostlině a koncentraci v jednotlivých kompartmentech rostliny a buněk (Sharma *et al.*, 2013; Wang and Wu, 2013).

Cílem práce je shrnout aktuální poznatky o transportu draslíku v rostlině s důrazem na osmotické funkce draslíku a to zejména v průduchách rostlin, protože ty jsou v tomto směru nejvíce prostudované. V menším rozsahu práce shrnuje také další funkce draslíku související s jeho rolí osmotika.

2. Význam draslíku v rostlině

Draslík je nejhojnější anorganický kationt v rostlinných buňkách a druhý nejhojnější minerální živina. Koncentrace v cytoplasmě je obvykle mezi 100 a 200 mM. V apoplastu jeho koncentrace kolísá od 10 do 200 mM někdy až do 500 mM (Wang and Wu, 2013; Wang *et al.*, 2013). Jeho obsah v sušině je 1 až 4 %, podobně jako dusíku, ale o řád vyšší než fosforu (Brady and Weil, 2002). Řadí se mezi makroprvky.

Je nezbytný pro mnohé biochemické a fyziologické procesy v rostlině. Jako je aktivace enzymů, proteosyntéza, fotosyntéza a osmoregulace (jako složka cytoplazmy snižuje osmotický vodní potenciál, čímž redukuje ztráty vody průduchy listů a zvyšuje schopnost kořenových buněk přijímat vodu z půdy (Marschner, 1995; Brady and Weil, 2002). Reguluje otevřenost průduchů (Sawhney and Zelitch, 1969; Humble2 and Hsiao, 1970) a transport floémem. K^+ je využíván k regulaci membránového potenciálu a udržování aniont-kationtové rovnováhy (buněčné elektroneutrality) (Brady and Weil, 2002; Wang and Wu, 2013; Wang *et al.*, 2013). Draslík je rovněž zapojen v rychlých pohybech listů, což bylo dokumentováno např. u citlivky (*Mimosa*) (Kim, Côté and Crain, 1993; Moshelion *et al.*, 2002).

Draslík je zvláště důležitý pro odolnost rostlin k abiotickému i biotickému stresu. Z řady studií vyplynulo, že dobré zásobení rostliny draslíkem je spojené se zvýšenou tolerancí k suchu, odolností k mrazu, rezistencí k určitým houbovým onemocněním a tolerancí k hmyzím škůdcům také zvyšuje kvalitu květů, plodů i hlíz (Vaněk, 1999; Brady and Weil, 2002). V rostlinách s dostatkem draslíku je podporována syntéza vysokomolekulárních sloučenin (proteinů, škrobu a celulózy) a naopak jsou snižovány koncentrace nízkomolekulárních sloučenin (cukry, organické kyseliny, aminokyseliny, amidy. Ty však podporují rozvoj infekcí a napadání škůdci, kterým slouží jako zdroj potravy/energie (Marschner, 1995; Römheld *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2013).

Nízká hladina K v rostlině vystavené stresu také podporuje syntézu ROS (reactive oxygen species, reaktivních forem kyslíku) a fytohormonů auxinu, ethylenu a kyseliny jasmonové (Ashley, Grant and Grabov, 2006; Amtmann, Troufflard and Armengaud, 2008), které aktivují signalizační dráhu spouštějící obranné mechanismy rostliny.

Z řady studií vyplynulo, že rostliny se zvýšeným přístupem k draslíku vykazují větší odolnost k suchu. Pravděpodobně proto, že draslík podporuje stabilitu membrán a osmotické funkce (Premachandra, Saneoka and Ogata, 1991) a také podporuje dlouhivý růst kořenů, čímž zvyšuje povrch kořenů v kontaktu s půdou a tím i příjem vody kořeny (Römheld *et al.*, 2010).

Lze tedy uzavřít, že draslík hraje důležitou roli v odolnosti rostlin ke stresu (Wang *et al.*, 2013). Na druhou stranu existují i studie, ze kterých vyplývá, že v některých případech může mít zvýšený přísun K opačný efekt. Například, studie z roku 2006, zabývající se vlivem některých minerálních živin na rozvoj antraknózy u Jahodníku, dokumentuje nižší výskyt u rostlin, kterým žádný draslík dodáván nebyl oproti rostlinám hnojeným roztokem s K⁺ (Nam *et al.*, 2006). Tyto studie jsou ale minoritní. (Ve zmíněné studii není specifikováno ve formě, jaké soli byl draslík aplikován a byl dodán v poměrně vysoké koncentraci 30mM. Mohli by se vzít v úvahu účinky nadměrné koncentrace a způsob aplikace (zálivka rostlin pěstovaných v nádobách s perlitem).)

2.1. Projevy nedostatku draslíku

Není proto divu, že nedostatek draslíku má pro rostlinu mnohdy vážné důsledky. Mírný nedostatek negativně ovlivňuje biochemické reakce, jako je proteosyntéza, tvorba sacharidů a škrobu a tlumí fotosyntézu. V rostlině se hromadí nízkomolekulární látky (jako aminokyseliny, jednoduché cukry a amidy) (Vaněk, 1999).

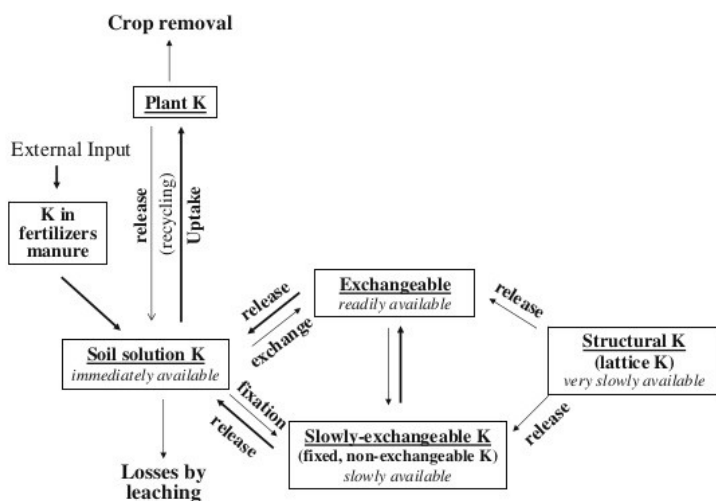
Vyšší nedostatek se projevuje vizuálními symptomy (Vaněk, 1999). Projevy lze pozorovat nejprve na starších částech rostliny, protože je to velmi mobilní prvek a je přednostně transportován do meristémů a mladších částí rostliny. Na okrajích listů je nejprve patrná chloróza, později pletiva nekrotizují, a někdy listy předčasně opadávají (Vaněk, 1999; Brady and Weil, 2002). U rostliny s nedostatečným zásobením draslíkem se zhoršuje hospodaření s vodou. K⁺ deficientní rostliny mají větší sklon podléhat infekcím než ty s dostatečným přísunem K⁺ (Wang and Wu, 2013; Wang *et al.*, 2013).

3. Výskyt draslíku v prostředí

Pouze malý zlomek (1-4%) celkového množství draslíku v litosféře je pro rostlinu dostupný. Většina je součástí minerálů a je nedostupný.

Rozlišují se čtyři základní formy draslíku v půdě: iontová forma K^+ v půdním roztoku (0,1-0,2 %), vyměnitelný K (1-2 %), nevyměnitelný či velmi pomalu vyměnitelný K fixovaný v 2:1 jílových minerálech (1-10 %) a nedostupná forma K (90-98 %). Zdroj draslíku jsou primárně minerály, jako je slída (biotit - tmavá slída a muskovit - světlá slída) a draselné živce. Jak tyto minerály na okrajích zvětrávají, draslík postupně přechází z nedostupné formy na formy nevyměnitelné (pomalu přístupné) či (snadno) vyměnitelné a do půdního roztoku, ze kterého je absorbován kořeny (Brady, 2002). Vyměnitelný K je držen na záporných nábojích na povrchích jílových minerálů a půdní organické hmoty, je v rovnováze s půdním roztokem K a pro rostlinu je rychle dostupný. Většina celkového půdního K dostupného pro rostlinu se obvykle nachází ve vrchní vrstvě půdy (Römheld *et al.*, 2010).

Draslík je přítomný v půdním roztoku pouze jako kladně nabitý kationt K^+ a zůstává v iontové formě i v buněčném roztoku. Rostliny přijímají velké množství draslíku, přibližně stejné jako dusíku a dokonce 5 až 10 x více než fosforu (Brady and Weil, 2002).



Obr. 1. Schéma představuje „cyklus“ draslíku v půdách. Čtyři zobrazené formy (K v půdním roztoku, vyměnitelný K, pomalu přístupný K a K v krystalové struktuře minerálů) se liší dostupností pro kořeny rostlin (Römheld *et al.*, 2010).

4. Transport draslíku

4.1 Příjem draslíku z prostředí

Jelikož koncentrace K^+ v půdě, odkud je přístupný pro kořeny, je oproti koncentraci v rostlinných buňkách extrémně nízká (0,1 – 1mM), kořenové buňky musí K^+ absorbovat proti směru jeho koncentračního gradientu. To je umožněno díky systému draslíkových transportérů a kanálů, které zajišťují rovněž následný transport K^+ v rostlině (Schroeder, Raschke and Neher, 1987; Schroeder, Ward and Gassmann, 1994; Maathuis, 2009).

Příjem draslíku vyššími rostlinami vykazuje typické znaky dvojí afinity. Odlišné mechanismy příjmu K^+ pracují při nízké a při vysoké externí koncentraci K^+ , střídají se podle množství K^+ v externím prostředí (Epstein, Rains and Elzam, 1963). Příjem mechanismem vysoké afinity K^+ za pomoci K^+ transportérů je aktivní především při nízkých externích koncentracích K^+ (pod 0,2 mM) (Epstein, Rains and Elzam, 1963), zatímco mechanismus příjmu za nízké afinity zprostředkovávají K^+ kanály při vyšších externích koncentracích K^+ (nad 0,3 mM) (Epstein, Rains and Elzam, 1963; Schroeder, Raschke and Neher, 1987).

Téměř veškerý příjem K^+ v kořenech u rostliny *Arabidopsis* obstarává Shaker kanál AKT1 (Hirsch *et al.*, 1998) a vysokoafinitní transportér HAK5 z rodiny KUP/HAK/KT (Gierth, 2005; Pyo *et al.*, 2010). Zajímavostí jsou masožravé rostliny, které přijímají K^+ nejen kořeny, ale využívají i K^+ z těl kořisti. Např. mucholapka podivná (*Dionaea muscipula*) získává draslík trávením těl drobných živočichů pomocí žláz lapacích listů. V přijímání jsou zapojeny transportéry DmKT1 a DmHAK5 a kanál AKT1 (Scherzer *et al.*, 2015).

AtHAK5 je schopen přijímat K^+ z roztoku o koncentraci nižší než 10 μ M (Gierth, 2005; Véry *et al.*, 2014). AtHAK5 je exprimován v kořenech, jeho transkripce je aktivována sníženou hladinou K^+ v půdě (Gierth, 2005; Wang and Wu, 2013). Gierth a spoluautoři dokumentují, že po 96 h růstu v hydroponickém systému v roztoku bez K^+ klesl obsah K^+ v kořenech na 60%. Exprese AtHAK5 byla za těchto K^+ deficientních podmínek více jak dvojnásobně zvýšena již po 48 h. HAK5 byl genem, kódujícím protein zajišťující přenos K^+ , jehož exprese byla nejvýrazněji zvýšena (dalšími geny zahrnutými ve studii byly geny kódující transportéry HAK6, HAK8 a geny kódující podjednotky Shaker kanálů AKT1 a KAT3). AtHAK5 je exprimován zejména v epidermis, primární kůře a vodivých pletivech kořenů, nejvýrazněji

v postranních kořenech, nejméně ve špičkách kořenů (Gierth, 2005). Na postranlační úrovni je HAK5 regulován pomocí kinázy CIPK23 (protein kináza 23 interagující s calcineurin B-like proteinem), která jej fosforyluje na N konci a tím zvyšuje jeho afinitu ke K⁺ (Ragel *et al.*, 2015).

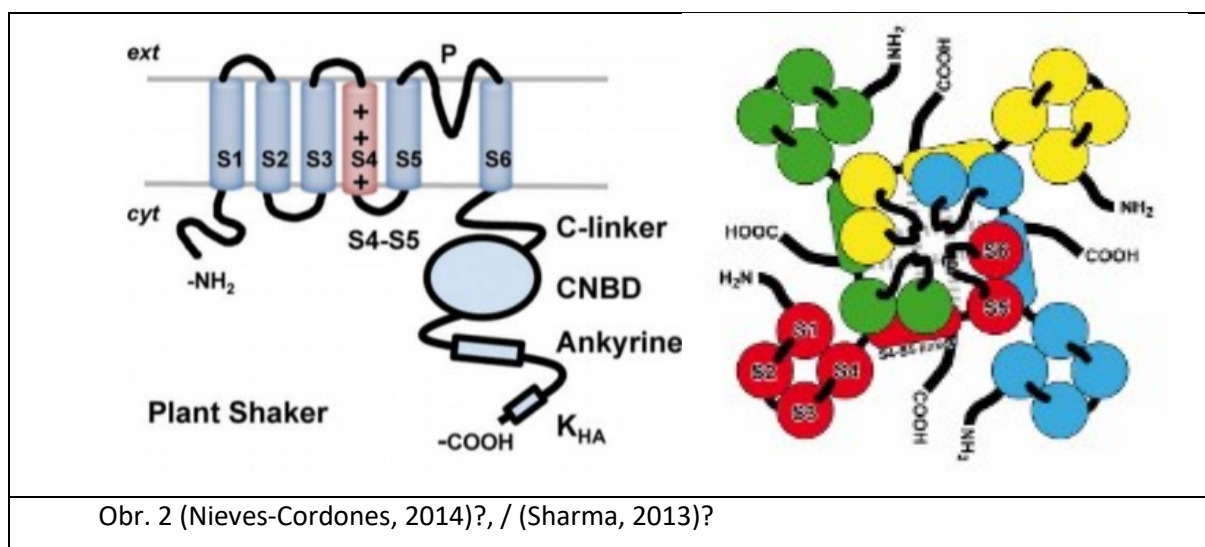
Jak již bylo zmíněno, AtHAK5 patří do rodiny HAK/KUP/KT transportérů. Jedná se o transportéry homologní k bakteriálnímu transportéru KUP a transportéru hub HAK1 (Wang, 2013; Li). Tyto proteiny mají 10-14 transmembránových domén, konkrétně HAK5 jich má 12 (Santa-María, Oliferuk and Moriconi, 2018). Většinou zajišťují sekundární aktivní transport, ale ne všechny, zprostředkovávají vysoko-afinitní příjem K⁺. Některé HAK/KUP/KT transportéry jsou aktivní za relativně nízkých koncentrací K⁺ (KUP2, KUP3, KUP4) jiné za nízké i vysoké (KUP1). Např. AtKUP2 hraje roli v buněčné expanzi rostoucích pletiv, která je závislá na K⁺ (Elumalai, Nagpal and Reed, 2002). KUP7 se zřejmě podílí na transportu K⁺ do xylému zejména za snížené dostupnosti K⁺, protože když byla jeho funkce narušena, příjem K⁺ a jeho nakládání do xylému bylo podstatně omezeno (Han *et al.*, 2016). KUP7 je exprimován ve středním válci, endodermis, ale i epidermis včetně kořenových vlásků. Regulace KUP7 v podmínkách K⁺ deficience neprobíhá na transkripční úrovni. Je pravděpodobné, že je regulován fosforylací zatím neznámou kinázou (Han *et al.*, 2016).

Jak shrnuje Li a spoluautoři, jsou HAK/KUP/KT transportéry regulovány zejména na transkripční úrovni (Li *et al.*, 2018), ale mohou být regulovány i postranlačně, pomocí fosforylace komplexem CIPK-CBL (CIPK - protein kináza interagující s calcineurin B-like proteinem; CBL – Calcineurin B-like protein) (Ragel *et al.*, 2015). Zajímavé je, že expresi pro transportéry z rodiny HAK/KUP/KT potlačuje přítomnost NH₄⁺, což je dokumentováno např. pro HAK5 (Qi *et al.*, 2008).

AKT1 je kanál zajišťující vstup draslíku do buňky. Jak už bylo řečeno výše, zprostředkovává pasivní příjem K⁺ z roztoku o mikromolárních koncentracích (Hirsch *et al.*, 1998), a je proto spolu HAK5 klíčový pro příjem K⁺ při jeho nízké dostupnosti. Deficience K⁺ spouští signalizaci přes Ca²⁺ ionty, které jsou zaznamenány vápníkovými receptory CBL1 a CBL9. Ty aktivují protein kinázu CIPK23, která fosforyluje AKT1. Fosforylace zvyšuje aktivitu kanálu (Xu *et al.*, 2006). Kanál AKT1 je tedy regulován stejnou proteinkinázou jako transportér HAK5 (Ragel *et al.*, 2015).

Zajímavostí je, že (vylití vápníku do cytosolu)/vápníkový signál aktivující příjem K^+ pomocí AKT1 a HAK5, lze dělit na primární, krátkodobý, který nastává do jedné minuty po navození deficiencie v elongační zóně v kořenu. A sekundární, který nastává v případě trvání deficiencie, v elongační a diferenciační zóně a trvá po dobu několika hodin (Behera *et al.*, 2017).

AKT1 patří mezi tzv. Shaker kanály, což jsou napěťově řízené kanály. Tyto kanály fungují jako tetramery, tvoří je tedy čtyři podjednotky (obr. 2 vpravo). Každá z nich je tvořena šesti transmembránovými doménami (S1 – S6) a jednou smyčkou tvořící pór, situovanou mezi pátou a šestou doménou (obr. 2 vlevo). Čtvrtá transmembránová doména S4 každého monomeru, nese několik kladných nábojů (kladně nabitých aminokyselin) uspořádaných na jedné straně helixu a tvoří napěťový sensor. Ten spolu s doménami S1 - S3 umožňuje regulaci otevírání kanálu v závislosti na polarizaci membrány. V reakci na depolarizaci membrány vyvolá v každém monomeru (kanál funguje jako tetramer) její napěťový senzor konformační změnu, jíž výsledkem je otevření kanálu (Sharma *et al.*, 2013; Wang and Wu, 2013).



Podle závislosti na napětí se Shaker kanály dají rozdělit na tři hlavní skupiny. Kanály zajišťující vtok K^+ (inward-rectifying) jsou aktivovány hyperpolarizací membránového potenciálu. Kanály zajišťující výtok K^+ (outward-rectifying) jsou aktivovány depolarizací. Kromě těchto dvou skupin existují ještě kanály ovlivňující membránový potenciál jen částečně/mírně (weakly rectifying), kterou mohou být aktivovány hyperpolarizací a v závislosti na membránovém potenciálu fungují buď pro příjem nebo výdej K^+ (Sharma *et al.*,

2013; Wang and Wu, 2013). Takovým kanálem je např. AKT2 (*Arabidopsis* K⁺ transporter 2) (citace primární práce k AKT2)(Michard *et al.*, 2005; Held *et al.*, 2011). Jednu podjednotku AKT2 opět tvoří šest transmembránových domén a jedna smyčka póru. Exprimován je zejména ve vodivých pletivech nadzemních částí rostliny, ale také v průduchách. Může se nacházet ve dvou stavech: nefosforylovaném, kdy se chová jako vtokový kanál a fosforylovaném, kdy zůstává permanentně otevřen. V druhém stavu umožňuje příjem i výdej. Fosforylace probíhá na dvou serinových zbytcích (S210 a S329), ale je pravděpodobné, že se na procesu přepínání mezi dvěma funkčními stavy podílí i další mechanismy (Sandmann *et al.*, 2011). Jak bude popsáno dále AKT2 hraje roli v příjmu K⁺ do svěracích buněk průduchu a v cirkulaci K⁺ ve floému, kde spolu s H⁺-ATPázou pohání transmembránový transport. Právě fosforylovaný stav umožňuje rychlý výtok K⁺ draslíku z průvodních buněk sítkových elementů a pohání nakládání fotoasimilátů do floému (Sandmann *et al.*, 2011). Je regulován komplexem CBL4-CIPK6, zprostředkovává transport z ER na PM (Held *et al.*, 2011).

Dalším zástupcem Shaker kanálů je KAT1, což je vtokový draselný kanál, který bude dále rozveden v kapitole o regulaci otevřenosti průduchů, kde je exprimován. Podílí se na příjmu K⁺ do svěracích buněk. Shaker kanály se nemusí skládat pouze z identických podjednotek, ale (většina) může fungovat jako heterotetramery, jako například KAT1-KAT2. Takové kanály pak kombinují vlastnosti svých podjednotek a zvyšují funkční variabilitu kanálů (Sharma *et al.*, 2013). KAT2 je dalším příkladem kanálu umožňujícího příjem draslíku do svěracích buněk průduchů. Oba právě uvedené kanály (a podobně také transportér HAK5) jsou regulovány auxin (Philippar *et al.*, 2004).

Zajímavostí je AtKC1, který se také řadí do skupiny kanálů Shaker typu, ale funguje pouze jako regulační podjednotka, která sama o sobě není schopna tvořit funkční kanál. Tvoří heterotetramery s podjednotkami transportující draslík do buňky (KAT1, KAT2, AKT2) a významně ovlivňuje jejich aktivitu. V podmínkách snížené dostupnosti K⁺ redukuje vodivost takového kanálu a posunuje hodnotu aktivačního potenciálu negativním směrem (Jeanguenin *et al.*, 2011; Wang X, Chen L, Liu W, 2016).

Dalšími kanály Shaker typu jsou SKOR, který uvolňuje draslík do xylému v kořenech, ale má i jiné funkce (Gaymard *et al.*, 1998), a GORK, který funguje ve výdeji K⁺ ze svěracích buněk a buněk kořenů (Hosy *et al.*, 2003).

4.2 Pohyb draslíku v rostlině

U vyšších rostlin bylo identifikováno množství genů, kódujících K⁺ transportéry a kanály. Tyto kanály a transportéry dohromady tvoří složitý systém transportu draslíku v rostlinných buňkách (obr. 3).

Draselné kanály

Proteiny draselných kanálů u vyšších rostlin jsou kódovány geny ze třech rodin – kromě již výše popsaných kanálu Shaker typu jsou to kanály TPK a Kir-like.

TPK/(KCO3) kanály (=tandem pore K⁺ channels) jsou draselné kanály nezávislé na napětí. Tvoří dimery, jedna podjednotka se skládá ze čtyř transmembránových domén a dvou domén póru (P1 a P2). Smyčky póru jsou uspořádány v tandemu, odtud je odvozen název genové rodiny (Sharma *et al.*, 2013; Wang and Wu, 2013). Homology byly nalezeny ve vyšších rostlinách a zelených řasách (Gomez-Porras *et al.*, 2012). Zástupcem TPK kanálů je např. TPK1, který reguluje příjem K⁺ do vakuoly za depolarizace a výdej při hyperpolarizaci napětí membrány tonoplastu. Aktivuje se zvýšením hladiny vápníku v cytosolu (Bihler *et al.*, 2005; Ivashikina *et al.*, 2005). Konformační změny vyvolané Ca²⁺ v EF-hands TPK1 vyvolávají zpětnou vazbu na architekturu kanálu a tím kontrolují přechody mezi otevíráním a zavíráním kanálu (Gobert *et al.*, 2007).

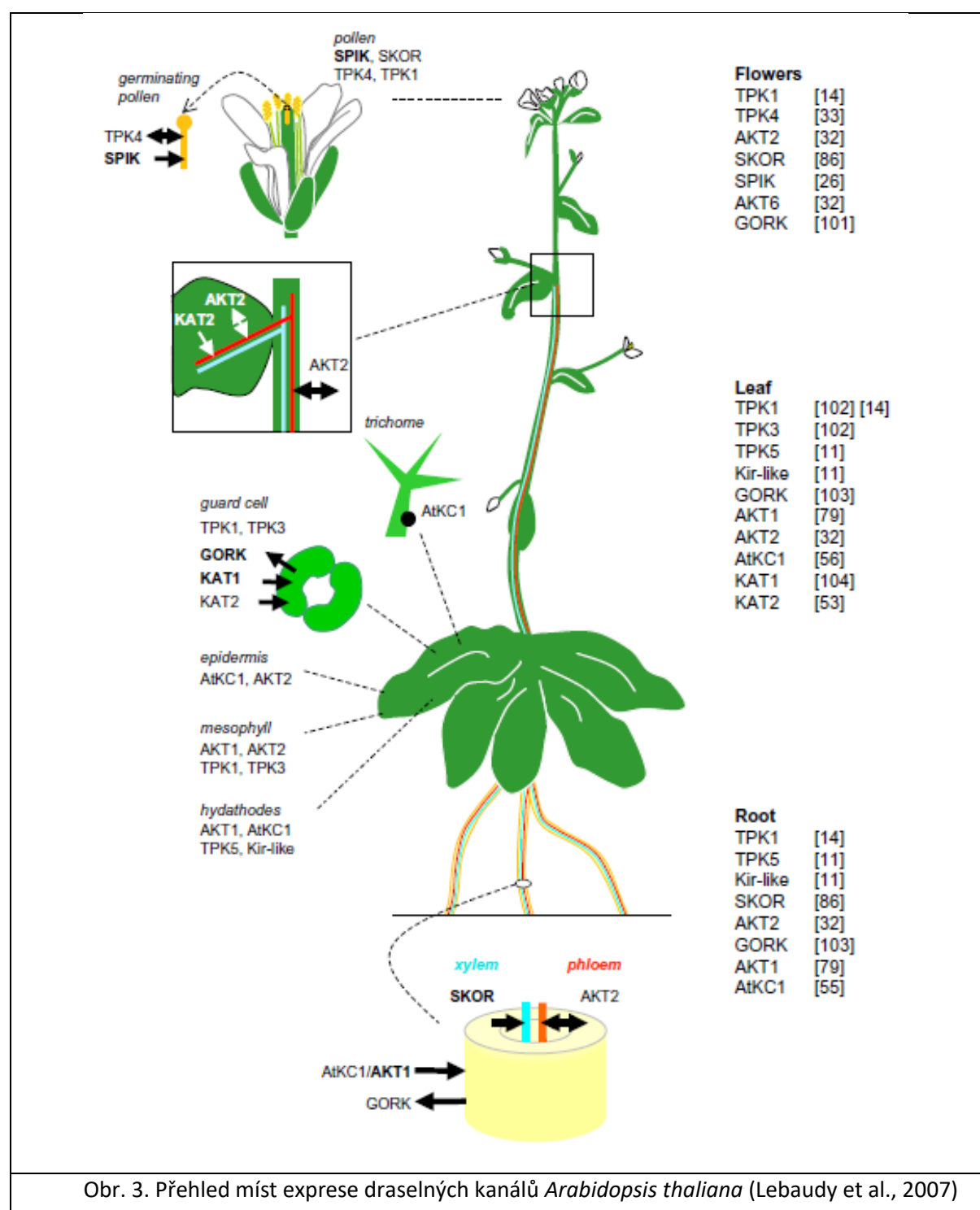
Kir-like kanály jsou strukturně podobné TPK kanálům. Pravděpodobně evolučně vznikly duplikací TPK genu a následnou delecí dvou transmembránových domén a jedné smyčky póru (citace) /(Podjednotky se skládají ze dvou transmembránových domén a jedné smyčky póru?)

Transportéry K⁺

Kromě K⁺ kanálů funguje v rostlině také řada transportérů K⁺. Ty patří do výše zmíněné rodiny HAK/KUP/KT (viz kapitola Příjem draslíku z prostředí) a také do rodin HKT, NHX a CHX (Sharma *et al.*, 2013; Wang and Wu, 2013).

HKT transportéry (High affinity K⁺ Transporters) se dělí se do dvou podrodin HKT1 a HKT2. První je selektivní pro Na⁺. Druhá zprostředkovává Na⁺-K⁺ symport a její zástupci byly zatím pozorovány pouze u jednoděložných rostlin. **NHX** (Na⁺/H⁺ exchangers) jsou Na⁺/H⁺ a K⁺/H⁺ antiportery. **CHX** (cation/H⁺ exchangers) byly nalezeny na endomembránách

(tonoplast,...), ale vyskytují se i na plazmatické membráně a fungují jako kation/H⁺ antiportery (Sze and Chanroj, 2018).



Obr. 3. Přehled míst exprese draselných kanálů *Arabidopsis thaliana* (Lebaudy et al., 2007)

5. Osmotické funkce draslíku

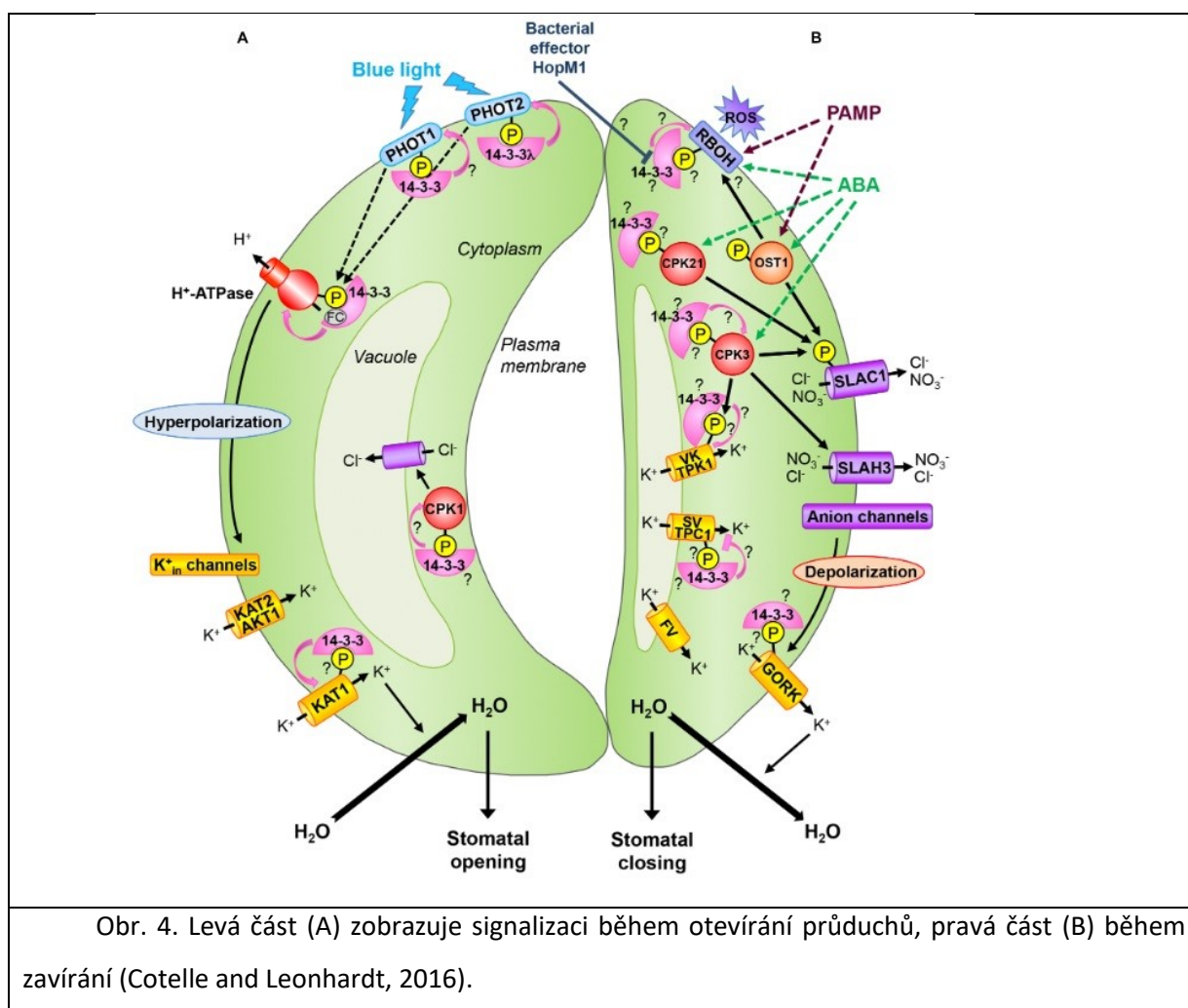
5.1. Role draslíku při regulaci otevřenosti průduchů

Průduchy jsou otvory v pokožce (epidermis) nadzemních orgánů rostliny, obklopené dvěma specializovanými buňkami. Ty se nazývají svěrací buňky a umožňují regulovat velikost póru, který zprostředkovává komunikaci mezibuněčných plynných prostor s okolní atmosférou (Esau, 1953). Pórem neboli průduchovou štěrbinou odchází z rostliny vodní pára v procesu transpirace. Stomatální transpirace spolu s kutikulární transpirací jsou hybnou silou transpiračního toku, tedy příjmu vody s rozpuštěnými látkami kořeny rostliny a jejím transportem rostlinou. Zároveň průduchové štěrby umožňují příjem CO_2 , nezbytného pro fotosyntézu. Průduchy tedy musí velikost póru jemně regulovat, tak aby vyvážily oba důležité procesy: výdej vody a příjem CO_2 (Taiz and Zeiger, 2015). Průduchy se u rostlin vyvinuly během jejich přechodu na souš, což dokládají anatomické studie dochovaných Rhyniofyt z období Siluru a Devonu.

Již Haberlandt v roce 1914 v rozsáhlé monografii rostlinné anatomie popisuje jako častý typ průduchu průduch tvořený dvěma ledvinovitými buňkami, jejichž vnitřní stěny, sousedící s pórem, jsou výrazně silnější a tím méně elastické než vnější strany (Haberlandt, 1914). Dále jsou stěny vyztužené celulózovými mikrofibrilami uspořádanými do tvaru prstenců, které buňkám znemožňují zvětšování objemu do šířky (Esau, 1953). Tento typ je označován jako *Amaryllis*. U trav pak najdeme typ *Graminae*, s činkovitými svěracími buňkami, jejich stěny jsou silnější ve střední části okolo průduchové štěrby, zatímco tenkostěnné okrajové části umožňují změnu objemu a regulaci otevřenosti (Haberlandt, 1914; Esau, 1953).

Otevírání a zavírání průduchů je zprostředkováno změnami obsahu vody ve svěracích buňkách. Protoplast rostlinné buňky vytváří turgorový tlak na svoji buněčnou stěnu, jehož velikost je dána právě obsahem vody v buňce. Při růstu turgoru dochází k rozpínání vnějších pružnějších stran stěn svěracích buněk a ty se vyklenou směrem od póru, průduch se otevře. Svěrací buňky průduchu nejsou v dospělosti spojeny plasmodesmy s okolními buňkami (Livingston, 1935), a proto je možné v nich nezávisle regulovat obsah osmoticky aktivních látek. Konkrétně hlavně K^+ , Cl^- , malátu a sacharózy, jak shrnuje např. (Jezek and Blatt, 2017).

Otevírání průduchu předchází aktivní transport K^+ do svěracích buněk, kde je jeho kladný náboj vyrovnáván zápornými náboji Cl^- a malátového aniontu. Roli K^+ doplňuje rovněž sacharóza. Zvýšená hladina osmoticky aktivních látek, a tedy snížený vodní potenciál ve svěracích buňkách způsobuje pasivní příjem vody. Rostoucí objem vody vede ke zvyšování turgorového tlaku na buněčnou stěnu, ta se na hřbetní straně buněk rozpíná a průduch se otevírá. Zavírání průduchu prochází opačný proces. Osmotika jsou z buněk průduchů odváděna, za nimi následuje transport vody. Klesající turgor vede k uzavření průduchu. Schéma transportu K^+ během otevírání a zavírání průduchů ukazuje obr. 4.



Obr. 4. Levá část (A) zobrazuje signalizaci během otevírání průduchů, pravá část (B) během zavírání (Cotelle and Leonhardt, 2016).

Vzhledem k intenzivním tokům osmoticky aktivních látek ve svěracích buňkách, jsou průduchy často využívány jako modelové rostlinné buňky (modelový systém) při výzkumu

transportu iontů přes plazmatickou membránu a tonoplast. V průduchách nalézáme velkou část *Shaker* rodiny K⁺ kanálů, např. AKT1, AKT2, KAT1, KAT2, AtKC1, GORK (Sharma et al., 2013). KAT1 a AKT1 představují hyperpolarizací aktivované vtokové draselné kanály. AKT2 je méně závislý na napětí a umožňuje příjem i výdej K⁺ (Sharma et al., 2013). AtKC1 je regulační podjednotka, která se může navázat na AKT1, AKT2, KAT1 i KAT2 (Duby et al., 2007). GORK je jediný výtokový draselný kanál v průduchu a je aktivovaný hyperpolarizací (Ache et al., 2000). Kromě kanálů plazmatické membrány jsou v průduchách aktivní také kanály lokalizované na tonoplastu, např. TPK1 (Gobert et al., 2007; Voelker et al., 2006). Role jednotlivých K⁺ kanálů a mechanismus jejich regulace bude v následujícím textu rozebrán podrobně.

Jak shrnuje např. Murata a spoluautoři (2015), otevřenost průduchů je regulována v závislosti na řadě faktorů (např. dostupnost vody, světlo, koncentrace CO₂ v intercelulárách, přítomnost polutantů) a zahrnuje řadu signalizačních mechanismů, např. působení kys. abscisové (ABA), kys. salicylové, ethylenu, reaktivních forem kyslíku (ROS), Ca²⁺ i řady regulačních proteinů (Murata, Mori and Munemasa, 2015). Stimulační role ABA v zavírání průduchů je popsána již velmi dlouho (Kriedemann et al., 1972). Je zajímavé, že průduchy jsou schopné syntetizovat ABA nezávisle na okolních buňkách (Bauer et al., 2013) a to pomocí *de-novo* syntézy nebo uvolněním z konjugátů (inaktivní formy ABA). Schopnost svěřacích buněk *de novo* syntetizovat ABA byla prokázána experimenty s "vadnoucím" *aba3-1* mutantem *Arabidopsis*. Mutant *aba 3-1* postrádá poslední krok syntézy ABA (přeměnu ABA-aldehydu na ABA). Následkem toho není aktivní signální dráha vedoucí k zavírání průduchů, což se projevuje rychlejším uvadáním rostliny za sucha. Specifická exprese *ABA3* pouze ve svěřacích buňkách *aba3-1* mutanta, projevy mutace potlačila. Lze se proto domnívat, že syntéza ABA v průduchách je dostačující pro regulaci otevřenosti průduchů (Bauer et al., 2013; Munemasa et al., 2015).

V signalizaci ABA je zapojen také vápník a vápník vazebné proteiny. Cytosolický Ca²⁺ funguje jako druhý posel v ABA signalizaci průduchů (Munemasa et al., 2015). CPK kinázy (Calcium-Dependentní Protein Kinázy) fungují jako senzor vápníku a zprostředkovávají Ca²⁺ dependentní regulaci aniontových kanálů S-typu.

Pokud se v průduchu nachází ABA, je vychytávána receptory PYR/PYL/RCAR (PYR – pyrabactin resistance1; PYL - PYR1-like; RCAR – regulatory components of ABA receptors (Gonzalez-Guzman et al., 2012), které následně vážou a inhibují proteinfosfatázy 2C (PP2C).

Díky tomu přestanou být inhibovány SnRK2 kinázy a I_{Ca} kanály. Je zvýšena cytoplazmatická koncentrace Ca^{2+} , který aktivuje Ca^{2+} dependentní proteinkinázu (CPK) a ta zpětně dále podporuje aktivaci I_{Ca} kanálu. Významná role CPK v signalizační dráze je fosforylace aniontových kanálů S-typu a ve spolupráci se SnRK2 i fosforylace kanálů R-typu. Výtok aniontů z buňky vede k depolarizaci plazmatické membrány, což aktivuje GORK a výtok draslíku. Za nepřítomnosti ABA jsou proteinfosfatázy 2C aktivní a provádí defosforylaci SnRK2 kináz a kanálů S-typu, které tím inaktivuje (Munemasa *et al.*, 2015).

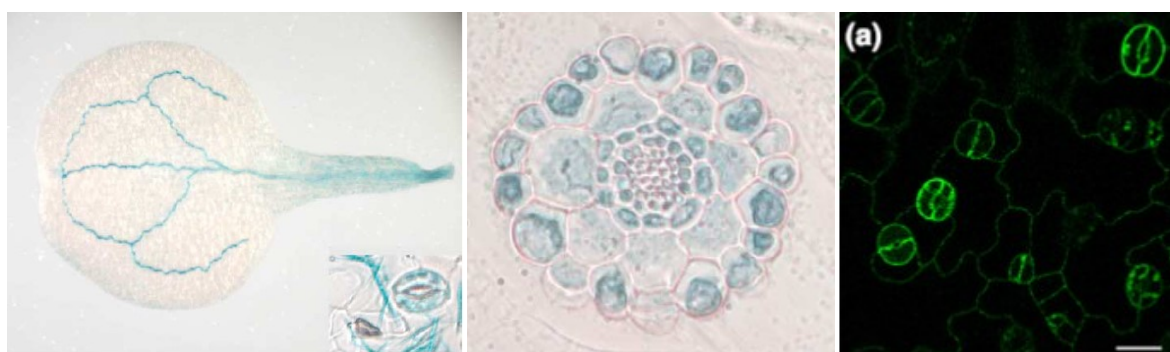
5.1.1. Výdej draslíku při zavírání průduchu

Výdej draslíku ze svěracích buněk zajišťuje především kanál GORK (Hosy *et al.*, 2003), ale zřejmě se toho mohou částečně účastnit i transportéry KUP2,6,8 (Osakabe *et al.*, 2013). GORK (Guard Cell Outward Rectifying K⁺ Channel) je výtokový K⁺ kanál nacházející se nejen ve svěracích buňkách rostlinných průduchů, ale i jiných částech rostliny, např. v kořenech (Eisenach *et al.*, 2014). Jeho hlavní význam spočívá v tom, že se podílí na zavírání průduchů, ale má v rostlině i další funkce (Hosy *et al.*, 2003). Přítomnost GORK mRNA byla zjištěna v pletivech stonku, listů, květů a protoplastech průduchů. Naproti tomu v buňkách mezofylu GORK mRNA detekována nebyla.

Kanál GORK je v listu lokalizován především na plazmatické membráně svěracích buněk, ale v menší míře i pokožkových buněk (Eisenach *et al.*, 2014), což ukazuje obrázek 5. Zajímavé je, že se zde vyskytuje v nespojitých bodech, které disociují při inaktivaci kanálu, což autoři dávají do souvislosti s konformačními změnami (stabilizací/destabilizací) kanálu a regulací otevřenosti (Eisenach *et al.*, 2014). Disociace je potlačena aplikací Ba^{2+} , který blokuje K⁺ kanály.

GORK patří do nadrodiny *Shaker* rostlinných kanálů a je blíže příbuzný kanálu SKOR, u *A. thaliana* je homologie 73% (Ache *et al.*, 2000). Jeho schopnost transportovat K⁺ byla potvrzena expresí v oocytech *Xenopus laevis* (Ache *et al.*, 2000; Eisenach *et al.*, 2014). GORK je regulován změnou polarizace membrány (Ache *et al.*, 2000), podobně jako již dříve popsané depolarizací aktivované draselné kanály SKOR (Gaymard *et al.*, 1998) a TPK1 (dříve KCO1) (Czempinski *et al.*, 1997). Patch-clamp technikou lze prokázat aktivaci kanálu při depolarizaci a zavírání při hyperpolarizaci plazmatické membrány. Spadají tedy do nadrodiny

tzv. voltage-gated, tedy napětově řízených iontových kanálů, zkráceně K_v nadrodiny. U nich se projevuje rovněž závislost na externí koncentraci kationtů kovů alkalických zemin. U GORK konkrétně zvýšená extracelulární koncentrace K^+ posunuje aktivační napětí do pozitivnějších hodnot (Blatt 1988 a 1997, Ache 2000). Pro kanál GORK bylo zjištěno, že přítomnost aktivátorů K^+ kanálů (např. KCl a K-glukonátu) v extracelulárním roztoku podporuje tok draslíku přes membránu (Eisenach *et al.*, 2014). Naopak inhibitory K^+ kanálů, jako TEA^+ (tetraethylamonium) a Ba^{2+} , jeho aktivitu výrazně potlačují (Ache *et al.*, 2000). Vodivost kanálu není ovlivňována pH v rozmezí mezi 5,6 a 7,4. Při nižším nebo vyšším pH je tok K^+ přes GORK omezen (Ache *et al.*, 2000).



Obr. 5. Obrázek ukazuje expresi GORK v listech (vlevo) a kořenech (uprostřed) u rostlin *Arabidopsis* nesoucích transkripční fúzi pGORK::GUS (Becker *et al.*, 2003) a lokalizaci kanálu (vpravo) v periférii svěřacích a epidermálních buněk u *Arabidopsis* nesoucích translační fúzi pUBQ10::GORK-GFP (Eisenach *et al.*, 2014).

Narušení aktivity GORK má za následek poškození procesu zavírání průduchů v reakci na tmou nebo stresový hormon kyselinu abscisovou. Nepřítomnost aktivity GORK vede ke zvýšené spotřebě vody (Hosy *et al.*, 2003).

Aktivita kanálu GORK je v rostlině regulována na transkripční úrovni prostřednictvím ABA (Becker *et al.*, 2003). Z této studie z roku 2003 také vyplývá, že u rostlin *Arabidopsis* vystavených suchu dochází až k 7x vyšší transkripci GORK oproti kontrolám, které suchu vystaveny nejsou. V mutantech *abi1-1* (*Arabidopsis thaliana abscisic acid insensitive 1-1*) je však transkripce GORK zvýšena maximálně 2x (Becker *et al.*, 2003). Mutant *abi1-1* vykazuje sníženou sensitivitu ke kyselině abscisové, např. je necitlivý k inhibici klíčení a růstu

kyselinou abscisovou. Mutace významně snižuje katalytickou aktivitu proteinfosfatázy typu 2C (PP2C) (Wu *et al.*, 2003), která je součástí signální dráhy ABA (Umezawa *et al.*, 2009).

Odříznuté listy *Arabidopsis* ztrácí vodu transpirací, přičemž mutant *abi1-1* podstatně výrazněji než WT. Z toho autoři vyvodili, že sucho spouští signalizační dráhu vedoucí přes ABA, jejímž výsledkem je zvýšení exprese genu kódujícího K⁺ kanál GORK v pletivech rostliny. Tento předpoklad potvrzuje skutečnost, že externě aplikovaná ABA je schopna indukovat transkripci GORK u semenáčků rostlin divokého typu, ale nikoliv ABA-insenzitivního mutantu *abi1-1* (Becker *et al.*, 2003). Obdobná indukce byla pozorována také u buněčné kultury *Arabidopsis* (Becker *et al.*, 2003). Mimo sucho spouští signalizační dráhu rovněž zvýšená salinita a osmotický stres, opět prostřednictvím ABA. V buněčné kultuře vystavené osmotickému stresu (zvýšené koncentraci sorbitolu nebo NaCl) dochází ke stimulaci syntézy ABA i vyšší expresi GORK (Becker *et al.*, 2003).

Jak už bylo řečeno výše, GORK je v rostlině exprimován nejen ve svěracích buňkách, ale i v kořenech a vodivých pletivech (Becker *et al.*, 2003). V souvislosti s vlivem ABA na expresi GORK je nicméně zajímavé, že v samotných svěracích buňkách se exprese GORK na rozdíl od ostatních pletiv rostliny jeví k ABA necitlivá. U listu, do kterého byla řápičkem přiváděna ABA, došlo do několika minut k zavírání průduchů. Ošetření samostatných průduchů kyselinou abscisovou však další zvýšení transkripce GORK nevyvolalo. Autoři spekulují, že exprese GORK ve svěracích buňkách, která je stabilně vysoká a není přímo ovlivněna působením ABA, umožňuje rostlině kontrolovat turgor svěracích buněk rychleji a nezávisle na ostatních pletivech rostliny (Becker *et al.*, 2003).

Mezi další faktory podílející se na regulaci GORK a dalších draselných kanálů Shaker rodiny (KAT1 a KAT2) ve svěracích buňkách průduchů patří vápník dependentní protein kinázy (CPK). Zvýšení cytoplazmatické koncentrace vápníku je krokem signální dráhy regulující zavírání průduchů v odpovědi na působení ABA. Cytosolický Ca²⁺ funguje jako druhý posel v ABA signalizaci v průduchách (Munemasa *et al.*, 2015). Ca²⁺ dependentní kinázou, u které byla role v regulaci GORK experimentálně naznačena, je CPK33 (vápník dependentní protein kináza 33). CPK33 zvyšuje aktivitu GORK a v mutantech *cpk33* je zavírání průduchů narušeno (Corratgé-Faillie *et al.*, 2017). Přesný mechanismus této regulace nicméně zatím není plně pochopen.

Transport na tonoplastu průduchu

Právě vakuoly mají významnou roli v udržování a regulování turgoru, protože jsou uložistištěm vody, různým organických látek a anorganických iontů. Jsou největšími zásobárnami draslíku v buňkách, K^+ se zde nachází v koncentraci 10 – 200mM, podle typu tkáně a momentálního přísunu draslíku do rostliny (Leigh and Jones, 1984; Walker, Leigh and Miller, 1996). Výdej K^+ z vakuoly je proto významně zapojen do procesu zavírání průduchu. Jedním z K^+ kanálů, které se podílejí na transportu K^+ přes tonoplast je kanál TPK1, dříve označovaný jako KCO1 (two pore K^+ channel/ K^+ channel outward (Czempinski *et al.*, 2002)).

TPK1 patří do rodiny kanálů TPK, které se vyznačují přítomností čtyř transmembránových domén a dvou smyček tvořících oblast póru. Dále mají dvě specifická vazebná místa. Jedno se nachází na N-konci a váže protein 14-3-3 a druhé na C-konci je EF-hand motiv vázající Ca^{2+} (Anschütz, Becker and Shabala, 2014). Na rozdíl od kanálů z rodiny Shaker, TPK tvoří heteromery (Voelker *et al.*, 2006).

Funkce TPK1 v průduchách spočívá v odvádění draslíku z vakuoly do cytoplasmy při zavírání průduchu, ale tento kanál najdeme na membránách vakuol všech typů buněk prýtu. Jeho činnost je aktivována Ca^{2+} ionty a regulována cytoplasmatickým pH. Naproti tomu není napěťově řízen, jeho činnost tedy není ovlivňována napětím na tonoplastu (Bihler *et al.*, 2005). Může být inhibován ionty Ba^{2+} , tetraethylamoniem nebo chininem. TPK1 je vysoce selektivní pro K^+ , nedochází na něm ke kompetici s Na^+ . (Voelker *et al.*, 2006; Gobert *et al.*, 2007)

5.1.2. Příjem draslíku při otevírání průduchu

Při otevírání průduchů dochází naopak k toku K^+ do svěřacích buněk. Tento pohyb zprostředkovává několik kanálů Shaker typu, konkrétně KAT1, KAT2, AKT1, AKT2.

KAT1 je kanál pro vstup K^+ lokalizovaný na plazmatické membráně (Schachtman *et al.*, 1992). Nalézáme ho zejména ve svěřacích buňkách průduchů (Nakamura *et al.*, 1995), kde se podílí na kontrole otevírání průduchů (Pilot *et al.*, 2001). Z exprese v oocytech *Xenopus* vyplývá, že se jedná o hyperpolarizací aktivovaný draselný kanál. Má typické sekvenční a strukturní znaky kanálů z rodiny Shaker: šest transmembránových segmentů, jednu P smyčku (pore-loop doménu), napěťový senzor. Je blokován inhibitory draselných kanálů, tetraethylamoniem ionty Ba^{2+} (Anderson, Huprikar and Kochian, 1992; Schachtman *et al.*,

1992). KAT1 je lokalizován na plazmatické membráně v pozičně stabilních mikrodoménách o průměru 0,5 μm (Sutter *et al.*, 2006).

Aktivita KAT1 kanálů je regulována interakcí s několika regulačními proteiny. Regulační proteiny 14-3-3 významně zvyšují výdej draslíku z buňky. Patří do skupiny ubiquitinových regulátorů. Mohou ovlivnit vodivost dvěma způsoby: zvyšují transport kanálu z endoplazmatického retikula (ER) na plazmatickou membránu, zvyšují pravděpodobnost otevření kanálu (Sottocornola *et al.*, 2008). Transport KAT1 proteinu z ER na plazmatickou membránu regulují proteiny nadrodiny SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor Attachment Protein Receptors). Ty jsou důležité pro buněčnou signalizaci a pro transport váčků, konkrétně rozeznání cílové membrány a fúzi váčků při vezikulárním transportu a v tomto směru regulují i pohyb KAT1 proteinu (Sutter *et al.*, 2006).

Další kanál, který zprostředkovává vstup draslíku do svěracích buněk je KAT2. Stejně jako KAT1 i KAT 2 hraje klíčovou roli v mechanismu otevírání průduchů. KAT 1 a KAT 2 mohou společně tvořit heterotetramer a v této podobě tvořit funkční kanál (Pilot *et al.*, 2001). KAT1 a KAT2 patří do rodiny napětově řízených kanálů Shaker, jejichž struktura a mechanismus funkce již byla popsána v kapitole 4.1 (Příjem draslíku z prostředí). KAT2 je exprimován převážně ve svěracích buňkách v doprovodu s KAT1 (Pilot *et al.*, 2001), ale také ve floému menších sítkových elementů společně s AKT2 (Me Xicluna *et al.*, 2007). V jednom buněčném typu tedy mohou být exprimovány podjednotky různých Shaker kanálů. I další shaker kanály jsou zapojeny do příjmu K^+ do svěracích buněk. Jedním z nich je kanál AKT1, který zprostředkovává nízkoafinitní příjem K^+ kořeny, ale nachází se též ve svěracích buňkách. Specificky ve svěracích buňkách může tvořit heterotetramer spolu s kanálem KAT2 (Cotelle and Leonhardt, 2016). Dalším kandidátem je kanál AKT2 (dříve označován také AKT2/3, KT2/3, AKT3), jenž je lokalizován ve svěracích buňkách, kde se může podílet na příjmu K^+ .

5.2. Role draslíku v růstu buněk

Osmoregulace má pro život rostliny nepostradatelnou roli. Podstatně se podílí na takových procesech jako je regulace růstu buněk (Elumalai, Nagpal and Reed, 2002; Osakabe *et al.*, 2013), ale také na odolnosti proti suchu. Bylo zjištěno, že těchto procesů se účastní některé draselné transportéry KUP. Rostoucí buňky potřebují tvořit v protoplastech dostatečný osmotický potenciál, který umožňuje příjem vody a udržování turgoru. Pozitivní hydrostatický tlak plazmatické membrány na buněčné stěny je jedním z podmínek růstu buněk.

Ve studii z roku 2013 prokazovali trojití mutanti *kup268* a *kup68-gork* zvýšenou expanzi buněk (a dosahovali většího vzrůstu), z čehož lze odvodit, že zmíněné transportéry KUP a kanál GORK při růstu buněk negativně regulují turgor. U mutantních rostlin *kup268* byl jev výraznější než u *kup68-gork* (Osakabe *et al.*, 2013).

Mutant KUP2/SHY3 (Short hypocotyl3) prokazuje menší velikost buněk než WT, ale tento fenotyp není závislý na transportu K^+ , nýbrž je pouze mutací indukován neznámým způsobem.

Draselné transportéry z dalších rodin hrají též roli v buněčné expanzi. NHX1 a NHX2 jsou K^+/H^+ antiportery, které se oba nachází na tonoplastu. Rostliny s vyřazenými geny pro *NHX1* a *NHX2* prokazují nižší růst, protože expanze buněk je značně omezená. Dvojití mutanti mají růst omezen ještě výrazněji (Bassil *et al.*, 2011).

5.3. Role draslíku v rychlých pohybech rostlin

Nedávno byl charakterizován kanál Shaker typu u vinné révy VvK3.1 (K^+ kanál z *Vitis vinifera*), uplatňující se zejména v transportu draslíku do zrajících hroznů, ale rovněž umožňující paraheliotropické pohyby listů, díky kterým je rostlina schopná zamezit přílišnému vystavení listů přímému slunečnímu záření tím, že orientuje rovinu listů rovnoběžně ke slunečnímu záření. Je blízkce příbuzný kanálu AKT2, a stejně jako on může fungovat jako vtokový draselný kanál, aktivovaný hyperpolarizací, nebo draslík propouštět

oběma směry v trvale otevřeném stavu (je tedy tzv. weakly rectifying channel) (Nieves-Cordones *et al.*, 2019).

U vinné révy bylo pozorováno, že je *VvK3.1* exprimován ve floému celé rostliny/všech orgánů (zejména během zrání hroznů) a v pulvinech. Pulviny jsou část řapíku, vyskytující se u některých druhů rostlin, která se podílí na pohybech listů. Jsou tvořeny dvěma skupinami specializovaných buněk: flexorové na adaxiální a extenzorové na abaxiální straně. Na podobném principu, jako u svěracích buněk průduchů, dochází ke změnám obsahu osmoticky aktivních látek (zejména K^+) a tím pádem ke změnám turgoru těchto buněk. Díky těmto změnám je rostlina schopna hýbat listy. Pomocí *in situ* hybridizace byla zjištěna výrazná exprese *VvK3.1* na abaxiální straně pulvinu, kde se nacházejí extenzorové buňky (Cuéllar *et al.*, 2010; Nieves-Cordones *et al.*, 2019).

Rovněž zpeřené listy tropického stromu *Samanea* se pohybují pomocí pulvinů na bázi listů a lístků. Na noc se listy sklápějí, flexorové buňky se naplňují, extenzorové se smršťují a pulviny se ohýbají dolů, ráno probíhá opačný proces. Rozpínající se buňky hromadí soluty, hlavně K^+ a $Cl^-/malát^-$, výsledný snížený vodní potenciál způsobí příjem vody. U buněk v opačné části dochází k pasivní ztrátě solutů a poté vody (Moran, 2007).

V pulvinech *Samanea* bylo zjištěno několik kanálů zajišťujících transport K^+ . Na plazmatické membráně SPORK1 (spodobá se SKOR a GORK) zajišťuje výtok K^+ , naopak SPICK1 a 2 (jsou homologní s AKT2) zajišťují příjem. SPOCK1 (homologní s KCO1) je lokalizovaný na tonoplastu a zřejmě zajišťuje výdej K^+ z vakuoly. Míra transkripce jednotlivých kanálů podléhá regulaci v závislosti na světle a cirkadiálním rytmu a liší se v jednotlivých částech listu (Kim, Côté and Crain, 1993; Moshelion *et al.*, 2002).

6. Závěr

K^+ je nejvíce zastoupeným kationtem v rostlinných buňkách. Má klíčovou roli pro odolnost rostliny proti nepříznivým podmínkám jako je sucho. Na čemž má podíl zejména jeho funkce v osmoregulaci jakožto osmoticky aktivního prvku. Dál také skutečnost, že jako nositel náboje může regulovat elektrický membránový potenciál, (a podílet se na udržování pH, neutralizaci záporných nábojů).

Jako osmoticky aktivní prvek má podíl na regulaci turgoru a na turgoru založených procesech, jako jsou pohyby průduchů a ostatní nastické pohyby a růst buněk. Právě svěrací buňky průduchů spolu s buňkami pulvinů slouží jako modelové buňky pro studium regulací iontových kanálů a transportérů, včetně těch draselných. Kromě transportu přes plazmatickou membránu je nezbytný transport přes tonoplast, protože vakuola může sloužit podle potřeby jako zdroj nebo odkládiště K^+ a protože čerpání vody do vakuoly má klíčovou roli v regulaci turgoru buněk.

Rostlina potřebuje zajistit cytosolickou koncentraci K^+ v rozmezí asi 100-200 mM, aby byl možný správný chod mnoha enzymů, proteosyntézy i fotosyntézy. V prostředí je K^+ mnohdy pro rostlinu špatně dostupný, proto musí existovat přesně regulovaný příjem pomocí transportních proteinů v kořenech.

Ache, P. *et al.* (2000) 'GORK, a delayed outward rectifier expressed in guard cells of *Arabidopsis thaliana*, is a K^+ -selective, K^+ -sensing ion channel', *FEBS Letters*. doi: 10.1016/S0014-5793(00)02248-1.

Amtmann, A., Troufflard, S. and Armengaud, P. (2008) 'The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants', in *Physiologia Plantarum*, pp. 682–691. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01075.x.

Anderson, J. A., Huprikar, S. S. and Kochian, L. V. (1992) 'Functional Expression of a Probable *Arabidopsis thaliana* Potassium Channel in *Saccharomyces cerevisiae*'. doi: 10.1073/pnas.89.9.3736.

Anschütz, U., Becker, D. and Shabala, S. (2014) 'Going beyond nutrition: Regulation of potassium homeostasis as a common denominator of plant adaptive responses to environment'. doi: 10.1016/j.jplph.2014.01.009.

Ashley, M. K., Grant, M. and Grabov, A. (2006) 'Plant responses to potassium deficiencies: a role for potassium transport proteins'. doi: 10.1093/jxb/erj034.

Bassil, E. *et al.* (2011) 'The *Arabidopsis* Na^+ / H^+ Antiporters NHX1 and NHX2 Control Vacuolar pH and K^+ Homeostasis to Regulate Growth, Flower Development, and Reproduction C W'. doi: 10.1105/tpc.111.089581.

Bauer, H. *et al.* (2013) 'The Stomatal Response to Reduced Relative Humidity Requires Guard Cell-Autonomous ABA Synthesis', *Current Biology*. Cell Press, 23(1), pp. 53–57. doi:

10.1016/J.CUB.2012.11.022.

Becker, D. *et al.* (2003) 'Regulation of the ABA-sensitive *Arabidopsis* potassium channel gene *GORK* in response to water stress', *FEBS Letters*. Wiley-Blackwell, 554(1–2), pp. 119–126. doi: 10.1016/S0014-5793(03)01118-9.

Behera, S. *et al.* (2017) 'Two spatially and temporally distinct Ca²⁺ signals convey *Arabidopsis thaliana* responses to K⁺ deficiency', *New Phytologist*. Blackwell Publishing Ltd, 213(2), pp. 739–750. doi: 10.1111/nph.14145.

Bihler, H. *et al.* (2005) 'TPK1 is a vacuolar ion channel different from the slow-vacuolar cation channel.', *Plant physiology*. American Society of Plant Biologists, 139(1), pp. 417–24. doi: 10.1104/pp.105.065599.

Brady, N. C. and Weil, R. R. (2002) *The Nature and Properties of Soils*. 13th Edition. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Education Inc. Prentice Hall.

Corratgé-Faillie, C. *et al.* (2017) 'The *Arabidopsis* guard cell outward potassium channel GORK is regulated by CPK33', *FEBS Letters*. John Wiley & Sons, Ltd, 591(13), pp. 1982–1992. doi: 10.1002/1873-3468.12687.

Cotelle, V. and Leonhardt, N. (2016) '14-3-3 Proteins in Guard Cell Signaling', *Frontiers in Plant Science*. Frontiers, 6, p. 1210. doi: 10.3389/fpls.2015.01210.

Cuéllar, T. *et al.* (2010) 'A grapevine Shaker inward K⁺ channel activated by the calcineurin B-like calcium sensor 1-protein kinase CIPK23 network is expressed in grape berries under drought stress conditions', *Plant Journal*, 61(1), pp. 58–69. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2009.04029.x.

Czempinski, K. *et al.* (1997) 'New structure and function in plant K⁺ channels: KCO1, an outward rectifier with a steep Ca²⁺ dependency', *The EMBO Journal*. EMBO Press, 16(10), pp. 2565–2575. doi: 10.1093/emboj/16.10.2565.

Czempinski, K. *et al.* (2002) 'Vacuolar membrane localization of the *Arabidopsis* "two-pore" K⁺ channel KCO1', *The Plant Journal*. Wiley/Blackwell (10.1111), 29(6), pp. 809–820. doi: 10.1046/j.1365-3113X.2002.01260.x.

Duby, G. *et al.* (2007) 'AtKC1, a conditionally targeted Shaker-type subunit, regulates the activity of plant K⁺ channels'. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2007.03324.x.

Eisenach, C. *et al.* (2014) 'Clustering of the K⁺ channel GORK of *Arabidopsis* parallels its gating by extracellular K⁺', *The Plant Journal*. Wiley/Blackwell (10.1111), 78(2), pp. 203–214. doi: 10.1111/tpj.12471.

Elumalai, R. P., Nagpal, P. and Reed, J. W. (2002) 'A Mutation in the Arabidopsis KT2/KUP2 Potassium Transporter Gene Affects Shoot Cell Expansion', *The Plant Cell*, 14, pp. 119–131. doi: 10.1105/tpc.010322.

Epstein, E., Rains, D. W. and Elzam, O. E. (1963) 'RESOLUTION OF DUAL MECHANISMS OF POTASSIUM ABSORPTION BY BARLEY ROOTS', *Proceedings of the National Academy of Sciences*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 49(5), pp. 684–692. doi: 10.1073/pnas.49.5.684.

Esau, K. (1953) *Plant Anatomy*. John Wiley & Sons, Inc.

Gaymard, F. *et al.* (1998) 'Identification and Disruption of a Plant Shaker-like Outward Channel Involved in K⁺ Release into the Xylem Sap', *Cell*. *Cell Press*, 94(5), pp. 647–655. doi: 10.1016/S0092-8674(00)81606-2.

Gierth, M. (2005) 'The Potassium Transporter AtHAK5 Functions in K⁺ Deprivation-Induced High-Affinity K⁺ Uptake and AKT1 K⁺ Channel Contribution to K⁺ Uptake Kinetics in Arabidopsis Roots', *Plant Physiology*, 137(3), pp. 1105–1114. doi: 10.1104/pp.104.057216.

Gobert, A. *et al.* (2007) 'The two-pore channel TPK1 gene encodes the vacuolar K⁺ conductance and plays a role in K⁺ homeostasis.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. *National Academy of Sciences*, 104(25), pp. 10726–31. doi: 10.1073/pnas.0702595104.

Gomez-Porras, J. L. *et al.* (2012) 'Phylogenetic analysis of K⁺ transporters in bryophytes, lycophytes, and flowering plants indicates a specialization of vascular plants', *Frontiers in Plant Science*. *Frontiers Research Foundation*, 3(AUG). doi: 10.3389/fpls.2012.00167.

Gonzalez-Guzman, M. *et al.* (2012) 'Arabidopsis PYR/PYL/RCAR receptors play a major role in quantitative regulation of stomatal aperture and transcriptional response to abscisic acid', *Plant Cell*, 24(6), pp. 2483–2496. doi: 10.1105/tpc.112.098574.

Haberlandt, G. (1914) *Physiological plant anatomy*. Macmillan and Company.

Han, M. *et al.* (2016) 'Potassium Transporter KUP7 Is Involved in K⁺ Acquisition and Translocation in Arabidopsis Root under K⁺-Limited Conditions'. doi: 10.1016/j.molp.2016.01.012.

Held, K. *et al.* (2011) 'Calcium-dependent modulation and plasma membrane targeting of the AKT2 potassium channel by the CBL4/CIPK6 calcium sensor/protein kinase complex', *Cell Research*. *Nature Publishing Group*, 21(7), pp. 1116–1130. doi: 10.1038/cr.2011.50.

Hirsch, R. E. *et al.* (1998) 'A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition.', *Science (New York, N.Y.)*. American Association for the Advancement of Science, 280(5365), pp. 918–21. doi: 10.1126/science.280.5365.918.

Hosy, E. *et al.* (2003) 'The Arabidopsis outward K⁺ channel GORK is involved in regulation of stomatal movements and plant transpiration'.

Humble2, G. D. and Hsiao, T. C. (1970) *Light-dependent Influx and Efflux of Potassium of Guard Cells during Stomatal Opening and Closing*¹, *Plant Physiol.*

Ivashikina, N. *et al.* (2005) 'AKT2/3 subunits render guard cell K⁺ channels Ca²⁺ sensitive.', *The Journal of general physiology*. Rockefeller University Press, 125(5), pp. 483–92. doi: 10.1085/jgp.200409211.

Jeanguenin, L. *et al.* (2011) 'AtKC1 is a general modulator of Arabidopsis inward Shaker channel activity'. doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04617.x.

Jezek, M. and Blatt, M. R. (2017) 'The Membrane Transport System of the Guard Cell and Its Integration for Stomatal Dynamics.', *Plant physiology*. American Society of Plant Biologists, 174(2), pp. 487–519. doi: 10.1104/pp.16.01949.

Kim, H. Y., Côté, G. G. and Crain, R. C. (1993) *Potassium Channels in Samanea saman Protoplasts Controlled by Phytochrome and the, New Series*.

Kriedemann, P. E. *et al.* (1972) *Abscisic Acid and Stomatal Regulation*¹, *Plant Physiol.*

Lebaudy, A., Véry, A.-A. and Sentenac, H. (2007) 'K⁺ channel activity in plants: Genes, regulations and functions', *FEBS Letters*. Wiley-Blackwell, 581(12), pp. 2357–2366. doi: 10.1016/j.febslet.2007.03.058.

Leigh, R. A. and Jones, R. G. W. (1984) *A Hypothesis Relating Critical Potassium Concentrations for Growth to the Distribution and Functions of this Ion in the Plant Cell, Source: The New Phytologist*.

Li, W. *et al.* (2018) 'Plant HAK/KUP/KT K⁺ transporters: Function and regulation', *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 74, pp. 133–141. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.07.009.

Livingston, L. G. (1935) *The Nature and Distribution of Plasmodesmata in the Tobacco Plant, Source: American Journal of Botany*.

Maathuis, F. J. (2009) 'Physiological functions of mineral macronutrients This review comes from a themed issue on Physiology and metabolism Edited by David Salt and Lorraine Williams', *Current Opinion in Plant Biology*, 12, pp. 250–258. doi: 10.1016/j.pbi.2009.04.003.

- Marschner, H. (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Edition.
- Me Xicluna, J. *et al.* (2007) 'Increased Functional Diversity of Plant K Channels by Preferential Heteromerization of the Shaker-like Subunits AKT2 and KAT2 *'. doi: 10.1074/jbc.M607607200.
- Michard, E. *et al.* (2005) 'A Unique Voltage Sensor Sensitizes the Potassium Channel AKT2 to Phosphoregulation', *The Journal of General Physiology on August*. Ketchum and Slayman, 126, pp. 605–617. doi: 10.1085/jgp.200509413.
- Moran, N. (2007) 'Osmoregulation of leaf motor cells', *FEBS Letters*, 581(12), pp. 2337–2347. doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.002.
- Moshelion, M. *et al.* (2002) 'Diurnal and Circadian Regulation of Putative Potassium Channels in a Leaf Moving Organ 1'. doi: 10.1104/pp.010549.
- Munemasa, S. *et al.* (2015) 'Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture'. doi: 10.1016/j.pbi.2015.10.010.
- Murata, Y., Mori, I. C. and Munemasa, S. (2015) 'Diverse Stomatal Signaling and the Signal Integration Mechanism', *Annual Review of Plant Biology*. Annual Reviews , 66(1), pp. 369–392. doi: 10.1146/annurev-arplant-043014-114707.
- Nakamura, R. L. *et al.* (1995) *Two cDNAs encoding plant potassium channels, Fairley-Grenot and Assmann*. Blatt and Armstrong.
- Nam, M. H. *et al.* (2006) 'Effects of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium nutrition on strawberry anthracnose', *Plant Pathology*, 55, pp. 246–249. doi: 10.1111/j.1365-3059.2005.01322.x.
- Nieves-Cordones, M. *et al.* (2019) 'Regulation of K + Nutrition in Plants', *Frontiers in Plant Science* / www.frontiersin.org, 10, p. 281. doi: 10.3389/fpls.2019.00281.
- Osakabe, Y. *et al.* (2013) 'Osmotic Stress Responses and Plant Growth Controlled by Potassium Transporters in Arabidopsis', *The Plant Cell*, 25(2), pp. 609–624. doi: 10.1105/tpc.112.105700.
- Philippar, K. *et al.* (2004) 'Auxin activates KAT1 and KAT2, two K⁺-channel genes expressed in seedlings of Arabidopsis thaliana', *Plant Journal*. Blackwell Publishing Ltd, 37(6), pp. 815–827. doi: 10.1111/j.1365-313X.2003.02006.x.
- Pilot, G. *et al.* (2001) 'Guard Cell Inward K Channel Activity in Arabidopsis Involves Expression of the Twin Channel Subunits KAT1 and KAT2*'. JBC Papers in Press. doi: 10.1074/jbc.M007303200.

Premachandra, G. S., Saneoka, H. and Ogata, S. (1991) 'Cell membrane stability and leaf water relations as affected by potassium nutrition of water-stressed maize', *Journal of Experimental Botany*, 42(6), pp. 739–745. doi: 10.1093/jxb/42.6.739.

Pyo, Y. J. *et al.* (2010) 'High-affinity k⁺ transport in arabidopsis: AtHAK5 and AKT1 are vital for seedling establishment and postgermination growth under low-potassium conditions', *Plant Physiology*, 153(2), pp. 863–875. doi: 10.1104/pp.110.154369.

Qi, Z. *et al.* (2008) 'The high affinity K⁺ transporter AtHAK5 plays a physiological role in planta at very low K⁺ concentrations and provides a caesium uptake pathway in Arabidopsis', *Journal of Experimental Botany*, 59(3), pp. 595–607. doi: 10.1093/jxb/erm330.

Ragel, P. *et al.* (2015) 'CIPK23 regulates HAK5-mediated high-affinity K⁺ uptake in Arabidopsis roots', *Plant Physiology*, p. pp.01401.2015. doi: 10.1104/pp.15.01401.

Römheld, Volker *et al.* (2010) 'Research on potassium in agriculture: needs and prospects'. doi: 10.1007/s11104-010-0520-1.

Sandmann, M. *et al.* (2011) 'The K⁺ battery-regulating Arabidopsis K⁺ channel AKT2 is under the control of multiple post-translational steps.', *Plant signaling & behavior*. Taylor & Francis, 6(4), pp. 558–62. doi: 10.4161/psb.6.4.14908.

Santa-María, G. E., Oliferuk, S. and Moriconi, J. I. (2018) 'KT-HAK-KUP transporters in major terrestrial photosynthetic organisms: A twenty years tale', *Journal of Plant Physiology*. Elsevier GmbH, pp. 77–90. doi: 10.1016/j.jplph.2018.04.008.

Sawhney, B. L. and Zelitch, I. (1969) *Direct Determination of Potassium Ion Accumulation in Guard Cells in Relation to Stomatal Opening in Light*, *Plant Physiol.*

Schachtman, D. P. *et al.* (1992) 'Expression_of_an_Inward-Rectifying_Potassium_Channel_by_the_Arabidopsis_KAT1_cDNA', *Science (New York, N.Y.)*.

Scherzer, S. *et al.* (2015) 'Calcium sensor kinase activates potassium uptake systems in gland cells of Venus flytraps', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(23), pp. 7309–7314. doi: 10.1073/pnas.1507810112.

Schroeder, J. I., Raschke, K. and Neher, E. (1987) *Voltage Dependence of K⁺ Channels in Guard-Cell Protoplasts*, *Source*.

Schroeder, J. I., Ward, J. M. and Gassmann, W. (1994) 'Perspectives on the physiology and structure of inward-rectifying K⁺channels in higher plants: Biophysical implications for K⁺uptake', *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. Annual Reviews Inc., pp. 441–471. doi: 10.1146/annurev.bb.23.060194.002301.

Sharma, T. *et al.* (2013) 'The role of K⁺ channels in uptake and redistribution of potassium in the model plant *Arabidopsis thaliana*'. doi: 10.3389/fpls.2013.00224.

Sottocornola, B. *et al.* (2008) '14-3-3 proteins regulate the potassium channel KAT1 by dual modes', *Plant Biology*. Wiley/Blackwell (10.1111), 10(2), pp. 231–236. doi: 10.1111/j.1438-8677.2007.00028.x.

Sutter, J.-U. *et al.* (2006) 'Selective Mobility and Sensitivity to SNAREs Is Exhibited by the *Arabidopsis* KAT1 K⁺ Channel at the Plasma Membrane W'. doi: 10.1105/tpc.105.038950.

Sze, H. and Chanroj, S. (2018) 'Plant endomembrane dynamics: Studies of K⁺ /H⁺ antiporters provide insights on the effects of pH and ion homeostasis', *Plant Physiology*. American Society of Plant Biologists, 177(3), pp. 875–895. doi: 10.1104/pp.18.00142.

Taiz, L. and Zeiger, E. (2015) *Plant Physiology and Development*. Sixth Edit. Sinauer Associates, Inc.

Umezawa, T. *et al.* (2009) 'Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in *Arabidopsis*', *Proceedings of the National Academy of Sciences*. National Academy of Sciences, 106(41), pp. 17588–17593. doi: 10.1073/PNAS.0907095106.

Vaněk, V. (1999) *Výživa a hnojení polních plodin, ovoce a zeleniny*. Profi Press.

Véry, A.-A. *et al.* (2014) 'Molecular biology of K⁺ transport across the plant cell membrane: What do we learn from comparison between plant species?', *Journal of Plant Physiology*. Urban & Fischer, 171(9), pp. 748–769. doi: 10.1016/J.JPLPH.2014.01.011.

Voelker, C. *et al.* (2006) 'Members of the *Arabidopsis* AtTPK/KCO family form homomeric vacuolar channels in planta', *The Plant Journal*. Wiley/Blackwell (10.1111), 48(2), pp. 296–306. doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02868.x.

Walker, D. J., Leigh, R. A. and Miller, A. J. (1996) *Potassium homeostasis in vacuolate plant cells (cytosolic K⁺/cytosolic pH/plant vacuole)*, *Plant Biology*.

Wang, M. *et al.* (2013) 'The critical role of potassium in plant stress response', *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), pp. 7370–7390. doi: 10.3390/ijms14047370.

Wang X, Chen L, Liu W, *et al.* (2016) 'AtKC1 and CIPK23 Synergistically Modulate AKT1-Mediated Low-Potassium Stress Responses in *Arabidopsis*', *Plant Physiology*. doi: 10.1104/pp.15.01493.

Wang, Y. and Wu, W.-H. (2013) 'Potassium Transport and Signaling in Higher Plants', *Annual Review of Plant Biology*, 64(1), pp. 451–476. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120153.

Wu, Y. *et al.* (2003) 'The *abi1-1* mutation blocks ABA signaling downstream of cADPR action', *The Plant Journal*. Wiley/Blackwell (10.1111), 34(3), pp. 307–315. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01721.x.

Xu, J. *et al.* (2006) 'A Protein Kinase, Interacting with Two Calcineurin B-like Proteins, Regulates K⁺ Transporter AKT1 in Arabidopsis', *Cell*, 125(7), pp. 1347–1360. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.011.